

CAPÍTULO II

TRÊS GERAÇÕES DE FÁRMACOS ANTIEPILÉPTICOS:

CARBAMAZEPINA, OXCARBAZEPINA E

ACETATO DE ESLICARBAZEPINA

1. ENQUADRAMENTO

Até ao início dos anos 90 o tratamento da epilepsia estava limitado, fundamentalmente, aos seguintes fármacos antiepilépticos: PB, PHT, CBZ e VPA (BIALER, 2002; BRUNBECH e SABERS, 2002). O PB e a PHT foram mesmo registados e comercializados em muitos países sem qualquer ensaio clínico randomizado que demonstrasse evidência de eficácia e de tolerabilidade em doentes epilépticos. A avaliação da eficácia e da tolerabilidade dos fármacos antiepilépticos tornou-se mais rigorosa nos anos 60 e 70 com os programas de desenvolvimento clínico da CBZ e do VPA (GLAUSER *et al.*, 2006).

Muitos foram os fármacos antiepilépticos desenvolvidos nos últimos anos, alguns dos quais com vantagens farmacológicas importantes em relação aos antiepilépticos clássicos, porém, a CBZ, quarenta anos após a sua introdução na prática clínica, continua entre os mais prescritos e a ser recomendada como fármaco de primeira linha para o tratamento das crises epilépticas parciais e mesmo para o tratamento das crises generalizadas tónico-clónicas (PERUCCA, 2002b; GLAUSER *et al.*, 2006; SAVICA *et al.*, 2007; SMITH *et al.*, 2007). Assim, a CBZ, embora responsável por alguns efeitos indesejáveis clinicamente relevantes, pela utilidade clínica demonstrada e pela importância económica que encerra tem-se tornado um alvo particularmente atractivo para o desenvolvimento de análogos estruturais com um perfil melhorado de eficácia, segurança e tolerabilidade (BIALER, 2002; BIALER, 2006; ROGAWSKI, 2006). Portanto, um derivado da CBZ que mantivesse as propriedades anticonvulsivantes e fosse desprovido de *rash* cutâneo, diplopia e indução enzimática, efeitos atribuídos ao metabolito activo carbamazepina-epóxido (CBZ-E) resultante do metabolismo oxidativo daquela, teria grande utilidade clínica e acabaria por conquistar grande parte do mercado da CBZ (BIALER, 2002; BIALER, 2006).

O *design* de derivados da CBZ tem sido orientado, ao longo dos anos, por princípios farmacodinâmicos {(±)-5-aminocarbonil-10,11-dihidro-5H-dibenzo[*a,d*]-ciclohepteno-5,10-imina; ADCI} e por princípios farmacocinéticos [OXC, licarbazepina (Lic) e acetato de eslicarbazepina (ESL, BIA 2-093)]. O ADCI combinava na sua estrutura química a CBZ e a dizocilpina, um antagonista dos receptores NMDA. Em

consequência, o ADCI apresentava um espectro de actividade no SNC mais alargado que a CBZ porque actuava como um antagonista selectivo dos receptores NMDA e promovia o bloqueio dos canais de Na⁺ dependentes da voltagem. Todavia, o desenvolvimento clínico do enantiómero (+)-ADCI, enantiómero mais potente, foi abandonado no final da fase I de ensaios clínicos devido a toxicidade hepática (BIALER *et al.*, 1999; BIALER, 2002; BIALER, 2006). A OXC surgiu enquanto derivado química e estruturalmente relacionado com a CBZ e, ao contrário desta, a OXC não é metabolizada por via oxidativa, mas antes, rápida e extensamente reduzida durante a primeira passagem hepática ao metabolito activo Lic, evitando-se, desta forma, a produção de epóxidos tóxicos. Mais tarde, com a evolução da metodologia analítica, demonstrou-se que a biotransformação da OXC em Lic é enantioselectiva, aparecendo no plasma os enantiómeros S-licarbazepina (S-Lic) e R-licarbazepina (R-Lic) numa razão enantiomérica de aproximadamente 4:1 (FLESCH *et al.*, 1992; VOLOSOV *et al.*, 1999). Nos anos 90, provavelmente em resultado da consciencialização crescente da influência da estereoquímica na biodisposição e na bioactividade dos enantiómeros de fármacos quirais, foram sintetizadas séries de ésteres derivados da Lic racémica e dos seus enantiómeros puros com o objectivo de desenvolver alternativas melhoradas aos antiepilépticos CBZ e OXC. Da avaliação pré-clínica dos diversos compostos sintetizados foi seleccionado o ESL, um pró-fármaco do enantiómero S-Lic com uma potência anticonvulsivante similar à da CBZ e superior à da OXC, o qual foi continuamente desenvolvido e encontra-se, actualmente, em fase final de desenvolvimento clínico (BENES *et al.*, 1999; ALMEIDA e SOARES-DA-SILVA, 2007; ALMEIDA *et al.*, 2008). A Lic racémica atingiu também a fase III de ensaios clínicos para a administração intravenosa, no entanto, acabou por ser abandonada porque a solubilidade aquosa apresentada mostrou ser inadequada para a administração em bólus nos casos de *status epilepticus*. A Lic racémica está, presentemente, a ser desenvolvida para a perturbação bipolar (BIALER, 2006; ROGAWSKI, 2006). Assim, a Lic racémica e o ESL são considerados uma segunda geração da OXC e uma terceira geração da CBZ (figura II.1) (BIALER, 2006; PERUCCA, FRENCH e BIALER, 2007).

Neste capítulo pretende-se discutir, ainda que de forma resumida, as propriedades farmacológicas e o interesse clínico da CBZ, da OXC e do ESL. Além disto, o presente capítulo encerra com a apresentação dos objectivos concretos desta dissertação.

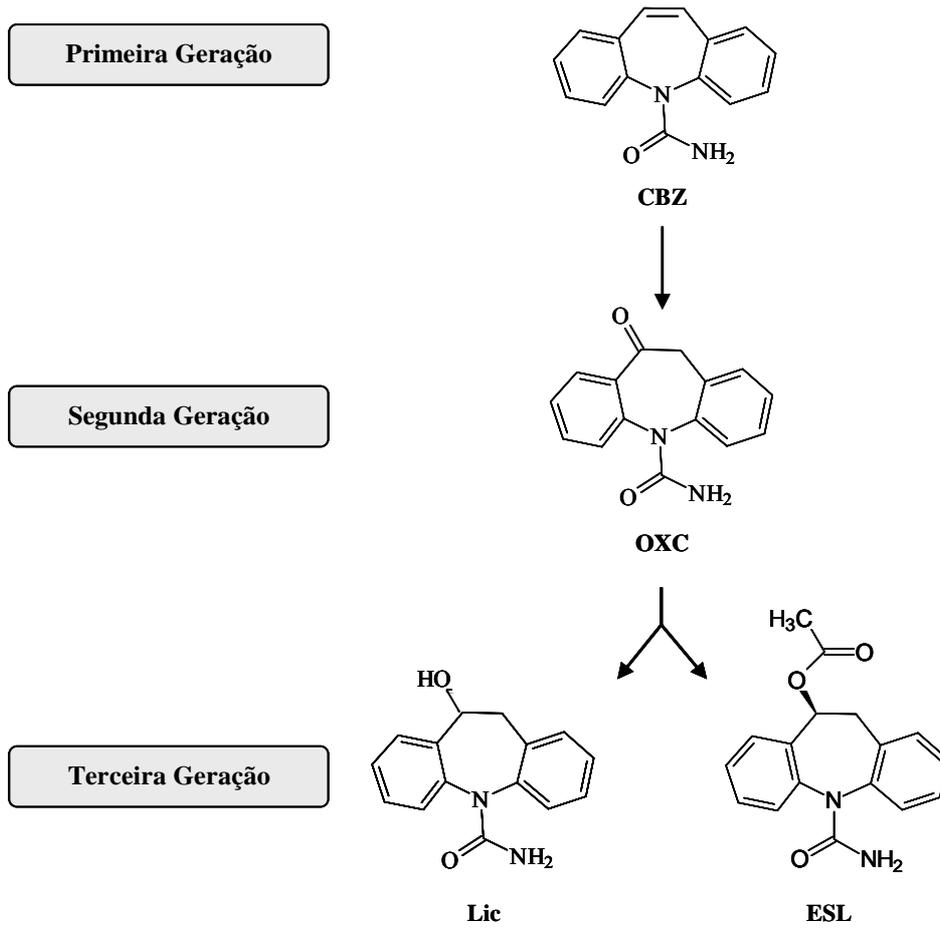


Figura II.1 – Novos fármacos em desenvolvimento derivados dos antiepilépticos CBZ e OXC.

2. ESTUDOS NÃO-CLÍNICOS

Desde a identificação da actividade anticonvulsivante da PHT em 1937, pela protecção que proporcionou contra as crises induzidas pelo teste do electrochoque máximo (MES) em gatos, que a descoberta de novos fármacos antiepilépticos tem sido baseada, essencialmente, no *screening* empírico de compostos em modelos animais de crises. Nas últimas décadas, tentou-se, no entanto, implementar uma aproximação mais racional no desenvolvimento de novos fármacos antiepilépticos, focada, particularmente, no *design* de compostos para aumentar a neurotransmissão inibitória mediada pelo GABA e reduzir a neurotransmissão excitatória mediada pelo Glu. Infelizmente, os fármacos antiepilépticos desenvolvidos através destas estratégias têm mostrado uma eficácia limitada e, muitas vezes, efeitos adversos graves (KLITGAARD, 2005). Ainda assim, o *design* de moléculas para interagirem com substratos específicos envolvidos nos mecanismos de geração e de propagação das crises epilépticas, receptores AMPA e canais de K^+ por exemplo, continua a constituir uma das aproximações actuais no desenvolvimento de novos fármacos antiepilépticos, embora a identificação e a caracterização de novos compostos anticonvulsivantes pelo *screening* em vários modelos de roedores continue a assumir-se como a estratégia dominante (PERUCCA, FRENCH e BIALER, 2007; SMITH, WILCOX e WHITE, 2007). Salientar neste contexto que os compostos a incluir nas etapas de *screening* anticonvulsivante podem resultar de novas entidades químicas testadas casualmente ou derivar da modificação estrutural, mais ou menos racional, de fármacos antiepilépticos já existentes com o objectivo de desenvolver compostos melhorados (ROGAWSKI, 2006). Esta última estratégia traduz os processos de identificação da actividade anticonvulsivante da OXC e do ESL, conduzidos, respectivamente, pelos Laboratórios Ciba e BIAL (SCHMUTZ *et al.*, 1994; BENES *et al.*, 1999).

Os modelos mais amplamente usados nas etapas de *screening* para a identificação pré-clínica de potenciais fármacos antiepilépticos têm sido os modelos do MES e do pentilenotetrazol (PTZ), os quais implicam a indução de crises agudas em animais, especialmente em ratos e murganhos, mediante a estimulação eléctrica e química. A eficácia anticonvulsivante no teste do MES apresenta uma boa correlação com o sucesso clínico subsequente no controlo das crises generalizadas tónico-clónicas,

mas é menos preditiva em relação à utilidade clínica nas crises parciais. Por outro lado, a eficácia anticonvulsivante no teste do PTZ pode ser preditiva da utilidade nas crises de ausência generalizadas e/ou mioclónicas humanas, embora existam exceções (WHITE, 2003; SMITH, WILCOX e WHITE, 2007). Um outro modelo animal frequentemente usado nos programas de desenvolvimento de novos fármacos antiepilépticos é o modelo *kindling*, um modelo de epilepsia com susceptibilidade adquirida para crises espontâneas e recorrentes em resultado da estimulação eléctrica repetida e subconvulsivante da região cerebral límbica (amígdala e hipocampo). As crises apresentadas pelo *kindling* têm início no local de aplicação do estímulo e depois generalizam rapidamente, apresentando este modelo um elevado valor preditivo da eficácia clínica em crises parciais (WHITE, 2003). Historicamente, ainda que não exista uma relação bem definida entre os resultados obtidos nos modelos animais e os que ocorrem no homem, a avaliação pré-clínica de candidatos a fármacos fornece pistas relevantes para as eventuais aplicações clínicas.

2.1 – Farmacodinamia

A CBZ, a OXC e o ESL têm sido testados em vários modelos animais preditivos da eficácia anticonvulsivante e da eventual toxicidade neurológica. Em ratos, 2 h após a administração oral, a CBZ e o ESL exibiram potências anticonvulsivantes equivalentes contra as crises induzidas pelo teste do MES [$ED_{50}(CBZ) = 5,4$ mg/kg; $ED_{50}(ESL) = 4,7$ mg/kg] e superiores à da OXC ($ED_{50} = 10$ mg/kg). Por outro lado, quando os fármacos foram administrados por via intraperitoneal, as potências anticonvulsivantes da OXC e do ESL foram comparáveis [$ED_{50}(OXC) = 6,1$ mg/kg; $ED_{50}(ESL) = 6,3$ mg/kg], mas inferiores à da CBZ ($ED_{50} = 3,4$ mg/kg). Paralelamente, o défice neurológico e os efeitos induzidos na coordenação motora foram avaliados através do teste do *rotarod*, tendo a CBZ evidenciado toxicidade considerável em doses baixas e, conseqüentemente, um índice de protecção anticonvulsivante (TD_{50}/ED_{50}) menor que o apresentado pela OXC e pelo ESL. Mediante a administração intraperitoneal, o ESL mostrou um índice de protecção aproximadamente duas vezes superior ao apresentado pela OXC, demonstrando eficácia e boa tolerabilidade (BENES *et al.*, 1999). Estudos anteriores também demonstraram que, em ratos e murganhos, a OXC e o seu metabolito activo (Lic) protegem contra a extensão tónica dos membros posteriores induzida pelo

MES ($ED_{50} = 10-20$ mg/kg, *per os*), sem provocar sedação (MCLEAN *et al.*, 1994). Em murganhos, pelo teste do MES, a potência anticonvulsivante da OXC e da Lic parece ser semelhante à demonstrada pela CBZ, porém, em ratos, a potência da CBZ é aproximadamente 2 vezes superior à apresentada pela OXC e pela Lic. Referir ainda que a OXC foi mais potente que a Lic em ambas as espécies (WAMIL *et al.*, 1994). Quando os enantiómeros S-Lic e R-Lic foram testados individualmente, o enantiómero R apresentou uma actividade ligeiramente inferior ao enantiómero S e à Lic racémica na protecção contra as crises no MES (MCLEAN *et al.*, 1994). O ESL mostrou ser particularmente eficaz na abolição das crises evocadas pelo MES em ratos, mas também foi efectivo em murganhos (BONIFÁCIO *et al.*, 2001; ALMEIDA e SOARES-DA-SILVA, 2003).

A acção anticonvulsivante do ESL foi igualmente evidenciada ao proteger contra as crises induzidas em ratos e murganhos pelos convulsivantes químicos PTZ, bicuculina, picrotoxina e 4-aminopiridina (ALMEIDA e SOARES-DA-SILVA, 2007). Nas crises parciais induzidas em ratos pela microperfusão repetida do hipocampo com doses limiares de picrotoxina, o pré-tratamento oral com o ESL (30 mg/kg), 2 h antes da microperfusão, permitiu a supressão das crises em 75% dos animais, sem a manifestação de efeitos adversos (SIERRA-PAREDES *et al.*, 2006). Num modelo de crises epilépticas agudas induzidas em ratos pela microperfusão do hipocampo com latrunculina-A, o ESL apresentou um excelente efeito anticonvulsivante e restabeleceu os níveis basais extracelulares de Glu e de aspartato e reduziu significativamente os níveis de glicina, todos eles aumentados pela latrunculina-A (SIERRA-PAREDES *et al.*, 2007). A protecção contra as crises induzidas por convulsivantes químicos tem também sido demonstrada pela OXC e Lic (PTZ, picrotoxina e estriçnina) e pela CBZ (PTZ, picrotoxina, estriçnina, bicuculina, 4-aminopiridina, pilocarpina e ácido kaínico entre outros), embora as doses necessárias para promover a acção anticonvulsivante nestes modelos sejam largamente superiores às efectivas no MES, caindo, geralmente, em níveis tóxicos (KUBOVÁ e MARES, 1993; SCHMUTZ *et al.*, 1994; KLITGAARD *et al.*, 1998; GLAUSER, 2001).

O ESL e a Lic demonstraram retardar o desenvolvimento do *kindling* induzido em murganhos pela estimulação corneal bilateral, podendo contribuir não apenas para a supressão das crises mas também para a inibição da geração de circuitos neuronais hiperexcitáveis (epileptogénese) (POTSCHKA, PEKCEC e SOARES-DA-SILVA, 2007). No desenvolvimento das crises do *kindling* da amígdala em ratos, o ESL e a CBZ parecem

ser similarmente efectivos (ALMEIDA e SOARES-DA-SILVA, 2007). O efeito inibitório da CBZ na progressão do *kindling* da amígdala vem contrariar a ideia existente. De facto, o efeito anticonvulsivante da CBZ na supressão das crises *kindling* era reconhecido, mas o fármaco era considerado inactivo ou até promotor no desenvolvimento do *kindling* da amígdala em ratos (SCHMUTZ *et al.*, 1994; POSTMA *et al.*, 2000; STRATTON *et al.*, 2003). A OXC e a Lic, pela administração de doses até 100 mg/kg *per os*, parecem não influenciar o desenvolvimento das crises *kindling* em ratos (SCHMUTZ *et al.*, 1994). No modelo do foco de alumínio em macacos, considerado um modelo preditivo de crises parciais e pós-traumáticas humanas, as propriedades anticonvulsivantes da OXC e da Lic foram também demonstradas (SCHMUTZ *et al.*, 1994; GLAUSER, 2001; KALIS e HUFF, 2001).

Assim, globalmente, os perfis anticonvulsivantes da CBZ e dos seus derivados, OXC e ESL, parecem ser sobreponíveis e evidenciam uma potência anticonvulsivante elevada nos modelos preditivos da eficácia clínica nas crises generalizadas tónico-clónicas e nas crises parciais. Por outro lado, o ESL parece ser superior em termos de tolerabilidade. Esta ideia é apoiada pela menor neurotoxicidade que o ESL apresenta, em relação à CBZ e à OXC, em culturas de neurónios de hipocampo de rato (ARAÚJO *et al.*, 2004).

2.1.1 – Mecanismo de acção

Como referido anteriormente, a estratégia mais proeminente na identificação de compostos anticonvulsivantes candidatos a fármacos antiepilépticos tem passado, primariamente, pelo *screening* em animais “inteiros”, os quais são mecanisticamente neutros, podendo identificar moléculas anticonvulsivantes que partilhem os modos de acção de fármacos já existentes ou que exerçam as suas propriedades anticonvulsivantes por modulação de novos alvos neuronais (ROGAWSKI, 2006). Assim, talvez esteja aqui a génese do entendimento incompleto dos mecanismos de acção farmacológica inerentes à maioria dos fármacos antiepilépticos, ou seja, o modo de acção destes compostos tem sido investigado, geralmente, *a posteriori*.

No entanto, quando as novas moléculas anticonvulsivantes são análogos estruturais de fármacos já estabelecidos, é de esperar que apresentem entre eles mecanismos de acção semelhantes, sendo mais provável ainda quando os espectros respectivos de eficácia anticonvulsivante são idênticos. Portanto, sendo largamente reconhecido que o efeito anticonvulsivante dos fármacos antiepilépticos CBZ e OXC, em concentrações terapêuticas, se deve, em grande parte, ao bloqueio dos canais de Na^+ dependentes da voltagem (DECKERS *et al.*, 2003; PERUCCA, 2005; KWAN e BRODIE, 2006), torna-se facilmente perceptível o porquê dos primeiros estudos destinados a investigar o mecanismo de acção do ESL terem sido dirigidos para a interacção com os canais de Na^+ (BENES *et al.*, 1999). O ESL exibiu capacidade para ligação aos canais de Na^+ e para inibição do influxo de Na^+ para os sinaptossomas corticais de rato, indiciando actividade na redução da propagação das crises (BENES *et al.*, 1999). Estudos subsequentes demonstraram que a potência inibitória do ESL e da CBZ sobre as correntes de Na^+ aumentam à medida que o potencial de membrana se torna menos negativo, perfil sugestivo da interacção com o estado inactivado dos canais de Na^+ dependentes da voltagem, cuja proporção aumenta com níveis crescentes de despolarização. Também foi demonstrado que a CBZ e o ESL interagem com o sítio 2 do estado inactivado do canal e a potência de inibição foi semelhante para ambos. Acrescentar ainda que o ESL mostrou menor afinidade que a CBZ para o estado de repouso do canal, sugerindo uma selectividade inibitória aumentada para os neurónios com elevada frequência de despolarização em relação aos neurónios com actividade normal (BONIFÁCIO *et al.*, 2001). Todavia, sendo amplamente aceite que a maioria dos fármacos antiepilépticos pode actuar por mais que um mecanismo e considerando as indicações para a modulação dos canais de Ca^{2+} , de K^+ e do sistema glutamatérgico pela CBZ, OXC ou Lic (MCLEAN *et al.*, 1994; SCHMUTZ *et al.*, 1994; AMBRÓSIO *et al.*, 2002), novos modos de acção foram progressivamente investigados para o ESL. PARADA e SOARES-DA-SILVA (2002) demonstraram que o ESL, tal como a CBZ e a OXC, inibe a libertação de neurotransmissores induzida pela veratrina, um composto que promove a abertura dos canais de Na^+ dependentes da voltagem. Assim, o efeito anticonvulsivante destes compostos pode dever-se não apenas ao bloqueio directo dos canais de Na^+ dependentes da voltagem, mas também à inibição da libertação de neurotransmissores excitatórios mediada por estes canais iónicos. Em contraste com a CBZ e a OXC, as quais parecem ter efeitos sobre os canais de Ca^{2+} , ainda que aparentemente em concentrações sem relevância terapêutica, o ESL parece não modular

estes canais (AMBRÓSIO *et al.*, 2001; AMBRÓSIO *et al.*, 2002). O ESL parece também não interferir com os receptores das BZDs, do GABA e do Glu (ALMEIDA e SOARES-DA-SILVA, 2003). Salientar que todas as hipóteses apontadas para o modo de actuação destes compostos se baseiam em ensaios experimentais e, portanto, os mecanismos de acção precisos e a contribuição real de cada um deles para a acção terapêutica da CBZ, da OXC e do ESL permanecem ainda por desvendar.

2.2 – Farmacocinética

Os modelos animais, para além de ocuparem uma posição decisiva na identificação e caracterização de potenciais compostos com eficácia antiepiléptica, são também muito úteis para predizer a farmacocinética no homem e são fundamentais no processo de selecção da dose a administrar nos primeiros ensaios clínicos (ROFFEY *et al.*, 2003; BIALER *et al.*, 2004).

Os estudos farmacocinéticos pré-clínicos não se restringem, geralmente, a uma espécie animal, pois a existência de elevada variabilidade entre espécies, nomeadamente, no que ao metabolismo diz respeito, obriga a definir precocemente qual ou quais as espécies que apresentam uma cinética metabólica mais aproximada ao homem. Desta forma, não surpreende que o metabolismo do ESL tenha sido avaliado, desde cedo, em microsomas de fígado humano, de murganho, de rato, de coelho, de cão e de macaco (HAINZL, PARADA e SOARES-DA-SILVA, 2001). Nas incubações com microsomas hepáticos humanos o ESL foi hidrolisado em S-Lic com uma semi-vida de eliminação ($t_{1/2}$) de 20 min, surgindo a OXC em quantidades residuais às 2 h. Em microsomas de fígado de murganho, coelho, cão e macaco o ESL foi metabolizado de forma similar ao sucedido no homem. Nos microsomas hepáticos de rato, por contraste com as espécies anteriores, o ESL sofreu hidrólise completa em 2 min, tendo sido formado o metabolito OXC em quantidades significativas e o metabolito 10,11-dihidro-*trans*-10,11-dihidroxi-CBZ (*trans*-diol) em menor proporção. Paralelamente, a OXC foi incubada com microsomas hepáticos humanos e de rato, tendo-se observado a redução em S-Lic e R-Lic numa razão de ~ 3,5/1 no primeiro caso e a formação em pequena extensão de S-Lic e *trans*-diol no segundo (HAINZL, PARADA e SOARES-DA-SILVA, 2001). MYLLYNEN *et al.* (1998) também investigaram o metabolismo da OXC e da CBZ

em microsomas de fígado humano e de murganho. Nas incubações com a OXC a formação do metabolito Lic foi notada em ambas as espécies, enquanto o *trans*-diol foi detectado apenas nos ensaios com microsomas hepáticos de murganho. Em relação às incubações com a CBZ, os microsomas hepáticos de murganho catalizaram a formação dos metabolitos CBZ-E, 3-hidroxi-CBZ e *trans*-diol e, por vezes, foram detectadas quantidades mínimas de Lic, enquanto os microsomas hepáticos humanos foram responsáveis pela produção de CBZ-E e 9-hidroximetil-10-carbamoil-acridano e, em menor quantidade, de 3-hidroxi-CBZ e Lic.

Em relação à caracterização da cinética *in vivo* da CBZ e da OXC em ratos e murganhos, constatou-se, inesperadamente, que a informação disponível é escassa. Mesmo assim, os poucos dados que foram possíveis de recolher permitirão obter uma visão geral da cinética da CBZ e da OXC nestas espécies. HIDAOKA *et al.* (2005) estudaram a farmacocinética de uma solução oral de CBZ em ratos Wistar machos. A CBZ foi absorvida rapidamente a partir do tracto gastrointestinal do rato, alcançando-se a concentração máxima (C_{max}) no plasma às 0,38 h após a dose. A CBZ foi oxidada extensamente ao metabolito CBZ-E, correspondendo a exposição sistémica deste a 66% da extensão de exposição à CBZ. O pico plasmático do metabolito CBZ-E foi atingido às 7,3 h. As concentrações plasmáticas da CBZ e do metabolito CBZ-E declinaram, respectivamente, com uma $t_{1/2}$ de 9,1 h e de 14,9 h. Em ratos Sprague-Dawley fêmeas a cinética de uma solução oral de CBZ foi semelhante à anteriormente descrita para os ratos Wistar. Ainda assim, algumas diferenças importantes foram identificadas, particularmente, a extensão de exposição ao metabolito CBZ-E correspondeu a 88% da exposição à CBZ (OHNISHI *et al.*, 2002). ZHU *et al.* (2005) constataram que a área sob a curva concentração-tempo (AUC) no plasma foi mesmo superior, em cerca de 2 vezes, para o metabolito CBZ-E que para a CBZ, após a administração oral do fármaco em ratos Sprague-Dawley machos. VAN BELLE *et al.* (1995) investigaram a cinética de distribuição da CBZ e do seu metabolito CBZ-E em ratos Wistar machos recorrendo a técnicas de microdiálise quantitativa e, naturalmente, as concentrações determinadas em função do tempo corresponderam às concentrações não ligadas. Pela administração intraperitoneal a C_{max} de CBZ no sangue foi observada às 0,4 h e a C_{max} do metabolito CBZ-E surgiu às 2,4 h, com as concentrações do metabolito a excederem largamente as concentrações da CBZ a partir das 1,5 h após a administração. A distribuição da CBZ do sangue para o cérebro ocorreu prontamente e sem que a barreira hemato-encefálica

(BHE) limitasse a extensão de penetração cerebral. Em oposição, o metabolito CBZ-E apresentou maior dificuldade no acesso ao cérebro, pois as concentrações cerebrais livres do metabolito CBZ-E foram aproximadamente metade das correspondentes observadas no sangue (VAN BELLE *et al.*, 1995). Globalmente, a clearance (CL) metabólica da CBZ parece ser marcadamente superior nos ratos que no homem. Todavia, as principais vias metabólicas parecem ser semelhantes nas duas espécies e o envolvimento das enzimas citocromo P450 3A na oxidação da CBZ em CBZ-E é conhecido quer no rato quer no homem (HIDAKA *et al.*, 2005). No murganho SWV, mediante a administração intraperitoneal de CBZ marcada radioactivamente, um estudo de balanço de massa mostrou que 56% da dose é excretada na urina, 11,7% nas fezes, 2% no ar exalado sob a forma de $^{14}\text{CO}_2$ e $\sim 22\%$ ainda permanecem no organismo do animal às 24 h pós-dose. Estes resultados indicam que uma proporção significativa da dose de CBZ é excretada na urina em 24 h. Posteriormente, tentou-se caracterizar o metabolismo da CBZ no murganho SWV pela identificação dos metabolitos presentes na urina. Nesta espécie, as vias metabólicas primárias identificadas na eliminação da CBZ incluíram a N-glucuronidação do próprio fármaco, a oxidação da CBZ ao metabolito CBZ-E com subsequente N-glucuronidação deste, a hidroxilação aromática com formação de fenóis da CBZ e a conjugação destes compostos com o ácido glucurónico. Contudo, além destes metabolitos principais, muitos outros metabolitos *minor* foram detectados, demonstrando bem a complexidade do metabolismo da CBZ (AMORE *et al.*, 2005).

A OXC parece ser rapidamente absorvida a partir do tracto gastrointestinal do rato, observando-se a C_{max} no plasma aproximadamente às 2 h, decrescendo as concentrações plasmáticas com uma $t_{1/2}$ relativamente longa (11,7 h). De um ponto de vista metabólico tem sido referido que a redução da OXC em Lic ocorre de forma pouco efectiva no rato porque as concentrações plasmáticas do fármaco excedem largamente os níveis do principal metabolito (Lic) (MATAR *et al.*, 1999). Esta ideia foi dominante, certamente, até à publicação dos trabalhos de HAINZL e colaboradores (2001), os quais demonstraram que a OXC quando administrada oralmente ao rato é rápida e extensamente reduzida no fígado em Lic, mais especificamente em S-Lic. Nestas condições as concentrações hepáticas do metabolito Lic foram sempre superiores às da OXC administrada, porém, os perfis plasmáticos indicam que a OXC é o principal responsável pela exposição sistémica ao fármaco. Estas evidências sugerem então que a

OXC é reduzida significativamente no fígado de rato, mas esta reacção é rapidamente revertida. A OXC apresenta uma boa distribuição plasma-cérebro no rato, sofrendo mesmo acumulação cerebral ($AUC_{\text{cérebro}}/AUC_{\text{plasma}} = 1,27$). Tal como no rato, também no murganho a OXC é reduzida apenas em S-Lic, mas a cinética desta reacção parece ser extremamente lenta, ou seja, a OXC apresenta uma elevada estabilidade metabólica no murganho e quando administrada constituirá o principal responsável pela exposição farmacológica nesta espécie (HAINZL, PARADA e SOARES-DA-SILVA, 2001).

Os dados disponíveis relativos à cinética *in vivo* do ESL em animais e anteriores ao trabalho que suporta esta dissertação eram efectivamente muito escassos e limitados aos estudos realizados por HAINZL e colaboradores (2001). O ESL uma vez administrado oralmente ao rato é rapidamente absorvido a partir do tracto gastrointestinal e prontamente hidrolisado em S-Lic. Para além do enantiómero S-Lic, surgem, concomitantemente, quantidades consideráveis dos metabolitos OXC e *trans*-diol no fígado de rato. No entanto, o principal metabolito presente no plasma e no cérebro de rato é a OXC, demonstrando a elevada capacidade oxidativa do rato, um pouco à semelhança do que aconteceu com a administração da própria OXC (HAINZL, PARADA e SOARES-DA-SILVA, 2001). Em contraste com o que ocorre no rato, o enantiómero S-Lic constitui a entidade química dominante no plasma de murganho e de coelho após a administração oral do ESL, aparecendo a OXC e o *trans*-diol somente em níveis residuais. Neste ponto, referir também a ocorrência da rápida hidrólise do ESL nestas espécies e salientar o facto de a C_{max} de S-Lic no plasma de coelho ser bastante inferior à encontrada no plasma de murganho após doses equivalentes (20 mg/kg) de ESL (HAINZL, PARADA e SOARES-DA-SILVA, 2001). O objectivo central desta dissertação insere-se precisamente neste contexto, designadamente, em caracterizar a farmacocinética do ESL e dos seus principais metabolitos no murganho, com o objectivo de prever a biodisposição no homem em compartimentos tecidulares de difícil acesso.

3. ESTUDOS E EFEITOS NO HOMEM

Em qualquer processo de descoberta e desenvolvimento de novos fármacos é de enorme utilidade a existência de bons modelos pré-clínicos representativos ou, pelo menos, preditivos dos efeitos clínicos (SCHWABE, 2002). Concretamente, em relação ao desenvolvimento de fármacos antiepilépticos, os modelos animais de crises agudas ou de epilepsia crónica têm possibilitado avanços importantes na terapêutica. Todavia, dada a heterogeneidade das crises e síndromes epiléticas é improvável que um número reduzido de modelos animais possa prever o potencial terapêutico total de um candidato a fármaco. Além disso, os animais têm um valor modesto na predição da tolerabilidade humana (PERUCCA, FRENCH e BIALER, 2007). Por isso, a avaliação decisiva de um fármaco antiepiléptico potencial só poderá ser feita definitivamente no homem (SCHWABE, 2002).

3.1 – Farmacocinética

O entendimento dos processos farmacocinéticos inerentes aos fármacos antiepilépticos é de particular importância. Efectivamente, o tratamento da epilepsia tem como objectivo primário o controlo das crises epiléticas, requerendo, para isso, uma acção antiepiléptica contínua, o que para a maioria dos fármacos só é conseguido se as concentrações plasmáticas correspondentes permanecerem continuamente em níveis terapêuticos. Segue-se então uma revisão breve da farmacocinética da CBZ, da OXC e do ESL no homem.

A absorção da CBZ a partir do tracto gastrointestinal humano é lenta e errática, talvez em consequência da reduzida solubilidade aquosa que apresenta. Ainda assim, a biodisponibilidade (F) oral da CBZ parece ser de aproximadamente 80% e aumenta com a ingestão simultânea de alimentos (BERTILSSON, 1978; GARERI *et al.*, 1999; KETTER *et al.*, 1999). A C_{max} de CBZ no plasma ocorre, geralmente, 4-8 h após a ingestão oral, podendo o pico plasmático surgir ainda mais tardiamente pela administração de doses elevadas (GARERI *et al.*, 1999; MCNAMARA, 2006).

A CBZ é um composto lipofílico neutro com boa capacidade para transpor as membranas biológicas e, uma vez absorvido, é distribuído rapidamente por todos os tecidos do organismo, incluído o cérebro (biofase). O volume aparente de distribuição (V_d) da CBZ varia de 1,0-1,4 L/kg e o do seu metabolito activo (CBZ-E) foi estimado em 0,74 L/kg, sugerindo que o metabolito CBZ-E se distribui essencialmente pela água do organismo e que a CBZ não se limita aos líquidos corporais distribuindo-se também para os tecidos. A percentagem de ligação às proteínas plasmáticas é de 70-80% para a CBZ e de 50% para o metabolito CBZ-E, e as concentrações de CBZ alcançadas no líquido cefalorraquidiano parecem corresponder às concentrações de fármaco livre presentes no plasma (EADIE, 1991; NEELS *et al.*, 2004; MCNAMARA, 2006). Em condições de equilíbrio estacionário as concentrações plasmáticas totais do metabolito CBZ-E correspondem a cerca de 20-25% das determinadas para a CBZ, no entanto, atendendo às diferenças existentes entre eles na percentagem de ligação às proteínas plasmáticas, as concentrações do metabolito CBZ-E correspondem a 50% das concentrações da CBZ no plasma ultra-filtrado (EADIE, 1991). A passagem da CBZ e do metabolito CBZ-E para o leite materno tem sido estimada através do cálculo da razão entre as concentrações no leite e no plasma materno e os valores encontrados variam de 0,17-0,69 para a CBZ e de 0,3-0,5 para o metabolito CBZ-E (BAR-OZ *et al.* 2000; MCAULEY e ANDERSON, 2002). Em relação à transferência transplacentária, a razão próxima da unidade entre as concentrações de CBZ no sangue materno e no sangue do cordão umbilical indica que a passagem desta através da barreira placentária ocorre livremente (TOMSON, 2005).

A eliminação da CBZ ocorre quase integralmente mediante metabolismo hepático, correspondendo a excreção urinária do fármaco inalterado a cerca de 2% da dose administrada (NEELS *et al.*, 2004). No homem a CBZ é metabolizada em mais de 30 metabolitos. As principais vias metabólicas conhecidas da CBZ estão esquematizadas na figura II.2.

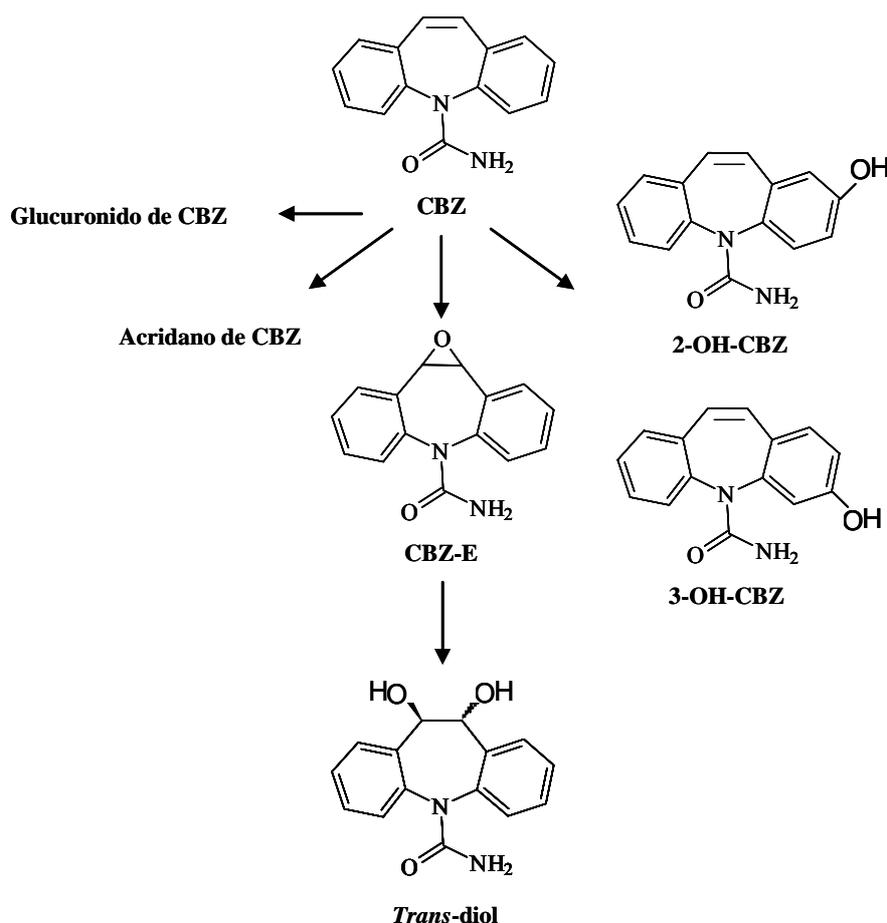


Figura II.2 – Principais vias metabólicas da CBZ identificadas no homem.

A via metabólica mais proeminente compreende a oxidação da CBZ ao intermediário farmacologicamente activo CBZ-E, a qual é catalizada por enzimas microsossomais hepáticas citocromo P450 3A4 e em menor extensão pelo citocromo P450 2C8. O metabolito CBZ-E é hidrolisado quase por completo em *trans*-diol por meio de enzimas epóxido-hidrolases, e o *trans*-diol, por sua vez, é eliminado pela urina na sua forma livre ou conjugado com o ácido glucurónico. Outras vias oxidativas quantitativamente importantes envolvidas na biotransformação da CBZ são a hidroxilação dos anéis aromáticos, aparentemente mediada pelo citocromo P450 1A2, conduzindo, principalmente, à formação de 2-hidroxi-CBZ e 3-hidroxi-CBZ, e a formação por uma via desconhecida de 9-hidroxi-10-carbamoil-acridano. Em adição, também ocorre glucuronidação directa da cadeia lateral carbamoil da CBZ e formação de glucuronidos dos metabólitos *trans*-diol, hidroxifenóis e CBZ-E pelas enzimas uridino difosfato-glucuronosiltransferases (UGT) (MYLLYNEN *et al.* 1998; REITH *et al.*, 2000). A CBZ é um indutor de diversas enzimas hepáticas envolvidas no

metabolismo de fármacos, particularmente das isoenzimas citocromo P450 (1A2, 2C9, 2C19 e 3A4) e das enzimas epóxido-hidrolases e UGT. Conseqüentemente, a CBZ promove a indução do seu próprio metabolismo e do metabolismo de outros fármacos, pois as enzimas referidas estão envolvidas na biotransformação da maioria das moléculas com interesse terapêutico (KETTER *et al.*, 1999; PERUCCA, 2006a). Quando administrada em dose única a $t_{1/2}$ plasmática da CBZ é de aproximadamente 24 h e a CL de 25 mL/min, mas mediante a administração repetida verifica-se auto-indução do seu metabolismo em 2 a 4 semanas, passando então a apresentar uma $t_{1/2}$ de cerca de 8 h e uma CL de 75 mL/min, requerendo, necessariamente, um aumento da dose durante as primeiras semanas de tratamento para manter as concentrações terapêuticas (4-12 µg/mL). O metabolito CBZ-E apresenta uma $t_{1/2}$ ligeiramente inferior à do seu precursor (6 h) (KETTER *et al.*, 1999). A cinética da CBZ é não-linear, provavelmente em resultado dos fenómenos de auto-indução no metabolismo, tendo-se observado uma melhor correlação da dose de CBZ com as concentrações plasmáticas do metabolito CBZ-E que com as concentrações do próprio fármaco (EADIE, 1991; ARROYO e KRAMER, 2001). Pela auto-indução ou hetero-indução do metabolismo da CBZ observa-se um declínio das concentrações do fármaco e um aumento das concentrações do metabolito CBZ-E, elevando-se a razão CBZ-E/CBZ (NEELS *et al.*, 2004). As concentrações do metabolito CBZ-E podem também elevar-se pela inibição das enzimas epóxido-hidrolases que medeiam a conversão metabólica do epóxido em *trans*-diol (CEPELAK *et al.*, 1998). Como referido previamente, a excreção renal da CBZ inalterada corresponde apenas a cerca de 2% da dose administrada, embora muitos dos seus derivados sejam excretados por esta via. Globalmente, a recuperação urinária da CBZ e dos seus metabolitos representa aproximadamente 72% da dose administrada, constituindo o metabolito *trans*-diol, na sua forma livre e conjugada, o principal responsável pela excreção renal da CBZ (BERTILSSON, 1978; BERNUS *et al.*, 1997; MAGGS *et al.*, 1997). A excreção da CBZ também ocorre certamente por via biliar, pois quando o fármaco foi administrado marcado radioativamente verificou-se um aparecimento lento de radioatividade nas fezes (BERTILSSON, 1978). A cinética de eliminação da CBZ parece ser dependente da idade, sendo a eliminação nas crianças mais rápida que aquela observada nos adultos. Também está bem documentado que a razão entre a concentração de CBZ e a dose aumenta com a idade (BATTINO, ESTIENNE e AVANZINI, 1995). A razão entre as concentrações plasmáticas de CBZ-E e CBZ é maior nas crianças que nos adultos, provavelmente em resultado do metabolismo mais

acelerado da CBZ (BERTILSSON e TOMSON, 1986; NEELS *et al.*, 2004). Nos idosos a CL da CBZ é menor que nos adultos e pode mesmo ser reduzida em cerca de 40% (ARROYO e KRAMER, 2001).

A absorção da OXC é quase completa quando administrada ao homem por via oral (> 95%). De facto, após a administração oral em voluntários saudáveis de uma dose de 400 mg de OXC marcada radioactivamente com carbono-14, o fármaco foi excretado quase completamente na urina, correspondendo a excreção fecal somente a cerca de 3% da dose administrada (SCHÜTZ *et al.*, 1986; MAY, KORN-MERKER e RAMBECK, 2003; FLESCHE, 2004). Para além de ser extensamente absorvida, a OXC é também rapidamente absorvida, atingindo-se a C_{max} no plasma dentro de 1 a 2 h após a dose. No entanto, apesar da velocidade e da extensão de absorção a partir do tracto gastrointestinal humano, em doses terapêuticas, as concentrações plasmáticas de OXC são baixas e sempre inferiores às do metabolito clinicamente relevante (Lic). A OXC inalterada representa somente 2% da exposição farmacológica sistémica total, a Lic é responsável por cerca de 70% e a exposição restante é atribuída a metabolitos secundários *minor*, os quais são rapidamente eliminados. Assim, na espécie humana, a OXC funciona como um pró-fármaco susceptível de rápida eliminação pré-sistémica devido à metabolização hepática em Lic, observando-se, geralmente, o pico plasmático deste metabolito 4-6 h após a administração oral do seu precursor (DICKINSON *et al.*, 1989; TARTARA *et al.*, 1993; VOLOSOV *et al.*, 1999; BEYDOUN e KUTLUAY, 2001; FLESCHE, 2004; REY *et al.*, 2004). Mediante a administração de doses diárias de OXC, compreendidas entre 300 e 2400 mg, quer a OXC quer o metabolito Lic parecem exibir uma cinética linear, sugerindo que as vias metabólicas respectivas não são saturáveis em doses terapêuticas (ELWES e BINNIE, 1996; BEYDOUN e KUTLUAY, 2001). O efeito da presença dos alimentos na disposição da OXC foi investigado por DEGEN *et al.* (1994), os quais constataram um aumento importante, em relação à condição de jejum, na F (16%) e no pico plasmático (23%) da Lic quando a OXC foi administrada imediatamente após uma dieta enriquecida em gorduras e proteínas. O tempo necessário para se observar a C_{max} (t_{max}) de Lic bem como a $t_{1/2}$ não foram afectados pela ingestão concomitante de alimentos. A OXC foi também administrada por via rectal numa formulação de supositórios lipófilos e sob a forma de uma suspensão, porém, não foi possível atingir as concentrações terapêuticas de Lic, sugerindo que a absorção rectal de OXC é baixa e sem interesse clínico. As concentrações reduzidas observadas para a Lic

podem ter sido consequência da absorção incompleta da OXC a partir da mucosa rectal ou da diminuição da metabolização hepática pré-sistémica correspondente (VAN DER KUY, KOPPEJAN e WIRTZ, 2000; CLEMENS *et al.*, 2007).

A OXC e o metabolito Lic são compostos lipofílicos e neutros que se difundem facilmente e de forma reversível através das membranas biológicas, incluindo a BHE. A extensa metabolização hepática associada às características favoráveis de distribuição contribuem para que as concentrações de OXC sejam detectadas no sangue durante poucas horas após a administração. As concentrações baixas de OXC determinadas no plasma têm dificultado a estimação dos parâmetros farmacocinéticos respectivos, o que poderá explicar as discrepâncias encontradas e a escassa informação disponível (MAY, KORN-MERKER e RAMBECK, 2003). O V_d estimado para a OXC foi de 3,9 L/kg (HOOPER *et al.*, 1987) e de 7,8 ou 12,5 L/kg dependendo do processo de ajuste dos dados (DICKINSON *et al.*, 1989). Estes autores salientaram, no entanto, que os valores obtidos para o V_d da OXC estarão certamente sobrestimados devido aos valores elevados obtidos para a CL comparativamente ao fluxo sanguíneo hepático. Mais consensuais são os dados referentes ao V_d da Lic, o qual parece variar entre 0,7-0,8 L/kg, ou seja, próximo do equivalente à distribuição pela água corporal total (NATSCH *et al.*, 1997; MAY, KORN-MERKER e RAMBECK, 2003; BANG e GOA, 2004; FLESCHE, 2004). A distribuição da Lic entre os eritrócitos e o plasma parece ser similar, embora os estudos realizados apontem para uma afinidade ligeiramente superior para os eritrócitos (JUNG *et al.*, 1997; GONZÁLEZ-ESQUIVEL *et al.*, 2000). A ligação às proteínas plasmáticas é de aproximadamente 60-67% para a OXC e 37-43% para a Lic. A percentagem baixa de ligação às proteínas plasmáticas do metabolito activo da OXC sugere que, pela administração concomitante de fármacos com elevada afinidade para as proteínas plasmáticas, o aumento eventual da fracção livre de Lic em resultado de fenómenos de competição não será clinicamente significativo (BANG e GOA, 2004). No líquido cefalorraquidiano as concentrações de Lic determinadas corresponderam a aproximadamente 61% das concentrações plasmáticas. Consequentemente, assumindo que a ligação da Lic às proteínas plasmáticas é cerca de 40%, parece razoável admitir-se que as concentrações alcançadas no líquido cefalorraquidiano serão semelhantes às concentrações livres correspondentes presentes no plasma (CHRISTENSEN *et al.*, 2001). Em relação às concentrações de Lic atingidas no tecido cerebral humano pouco se sabe, de referir apenas que as concentrações determinadas no neocórtex humano de doentes epiléticos submetidos a cirurgia foram ligeiramente inferiores (~ 14%) às encontradas

no soro total (MAY, KORN-MERKER e RAMBECK, 2003). No que respeita à passagem transplacentária, BÜLAU e colaboradores (1988) demonstraram que no momento do parto as concentrações de OXC e de Lic eram idênticas no plasma materno e no plasma do recém-nascido de uma mulher epiléptica tratada com OXC. Estes resultados foram confirmados por MYLLYNEN *et al.* (2001) ao mostrarem que as concentrações de OXC e dos seus metabolitos Lic e *trans*-diol (metabolito inactivo) eram da mesma magnitude no soro materno e no sangue do cordão em 12 mulheres medicadas com OXC durante a gravidez, indicando a passagem significativa através da placenta dos três compostos. A OXC e a Lic apresentam também uma distribuição considerável para a glândula mamária, pois, a razão entre as concentrações no leite e no plasma materno é de 0,5, o que é consistente com a extensão de ligação destas moléculas às proteínas plasmáticas (BÜLAU, PAAR e VON UNRUH, 1988; BAR-OZ *et al.* 2000; FLESCH, 2004).

A OXC, uma vez absorvida a partir do tracto gastrointestinal humano, é eliminada quase de imediato por metabolização hepática. Tal como referido anteriormente, a OXC sofre uma rápida e extensa metabolização pré-sistémica na primeira passagem pelo fígado, sendo a via metabólica dominante a redução em Lic, principal metabolito farmacologicamente activo (WELLINGTON e GOA, 2001; MAY, KORN-MERKER e RAMBECK, 2003; BANG e GOA, 2003; FLESCH, 2004). A reacção de redução da OXC em Lic, a qual é mediada por redutases arilcetona citosólicas hepáticas não indutíveis (SCHACHTER, 1999), é enantioselectiva, com predominância no plasma humano do enantiómero S-Lic (80%) relativamente ao enantiómero R-Lic (20%) (FLESCH *et al.*, 1992; VOLOSOV *et al.*, 1999). A razão plasmática entre os enantiómeros S-Lic e R-Lic tende mesmo a aumentar com a evolução da gravidez e no puerpério em mulheres medicadas com OXC (MAZZUCHELLI *et al.*, 2006). Os enantiómeros da Lic, para além de serem excretados directamente por via renal na sua forma inalterada, são também inactivados, pelo menos, por duas vias metabólicas: a via principal envolve a conjugação com o ácido glucurónico mediada por UGT, enzimas pouco sensíveis aos fenómenos de indução ou de inibição, e a via secundária consiste na oxidação ao metabolito *trans*-diol mediada por enzimas citocromo P450 (SCHACHTER, 1999; WELLINGTON e GOA, 2001; MAY, KORN-MERKER e RAMBECK, 2003). A OXC, em adição à redução em Lic, parece ser ainda parcialmente eliminada por conjugação com ácido glucurónico e com sulfato, sendo a excreção na sua forma inalterada inferior a 1% (SCHÜTZ *et al.*, 1986; FLESCH, 2004). Em adultos saudáveis, a $t_{1/2}$ plasmática estimada para a OXC é de 1-2,5 h, ilustrando a sua rápida conversão metabólica, e, em média, de

8-10 h para a Lic. No mesmo tipo de indivíduos, a clearance renal (CL_R) de Lic parece apresentar valores compreendidos entre 0,71 e 1,26 L/h (WELLINGTON e GOA, 2001; BANG e GOA, 2003). Na figura II.3 estão esquematizadas as principais vias metabólicas da OXC e as respectivas percentagens da dose excretadas na urina após a administração oral ao homem (SCHÜTZ *et al.*, 1986). Estes dados quantitativos confirmam que a eliminação da OXC ocorre quase exclusivamente sob a forma de metabolitos, os quais são predominantemente excretados pelos rins (FLESCH, 2004). O sexo, ao contrário da idade, não tem influência na farmacocinética da OXC (VAN HEININGEN *et al.*, 1991). Nos idosos a C_{max} de Lic no plasma e a AUC correspondente foram significativamente maiores que as encontradas em adultos jovens, enquanto em crianças de idades compreendidas entre 2-5 anos as concentrações de Lic no plasma foram menores que as observadas em crianças mais velhas e em adultos. A farmacocinética da OXC tem sido também investigada em doentes com insuficiência hepática e renal. Pelo facto de mais de 95% da dose total de OXC administrada ser excretada por via renal, aparentemente, a insuficiência hepática não terá um efeito determinante na farmacocinética da OXC e dos seus metabolitos, embora não tenham sido estudados doentes com insuficiência hepática grave. Todavia, as concentrações plasmáticas de Lic aumentam significativamente em doentes com a função renal comprometida [clearance da creatinina (CL_{CR}) inferior a 1,8 L/h]. Consequentemente, para um controlo adequado das crises epilépticas e para evitar a toxicidade por sobredosagem, recomenda-se especial atenção na administração de OXC em crianças jovens, idosos e doentes com insuficiência renal (WELLINGTON e GOA, 2001; MAY, KORN-MERKER e RAMBECK, 2003; BANG e GOA, 2003; FLESCH, 2004).

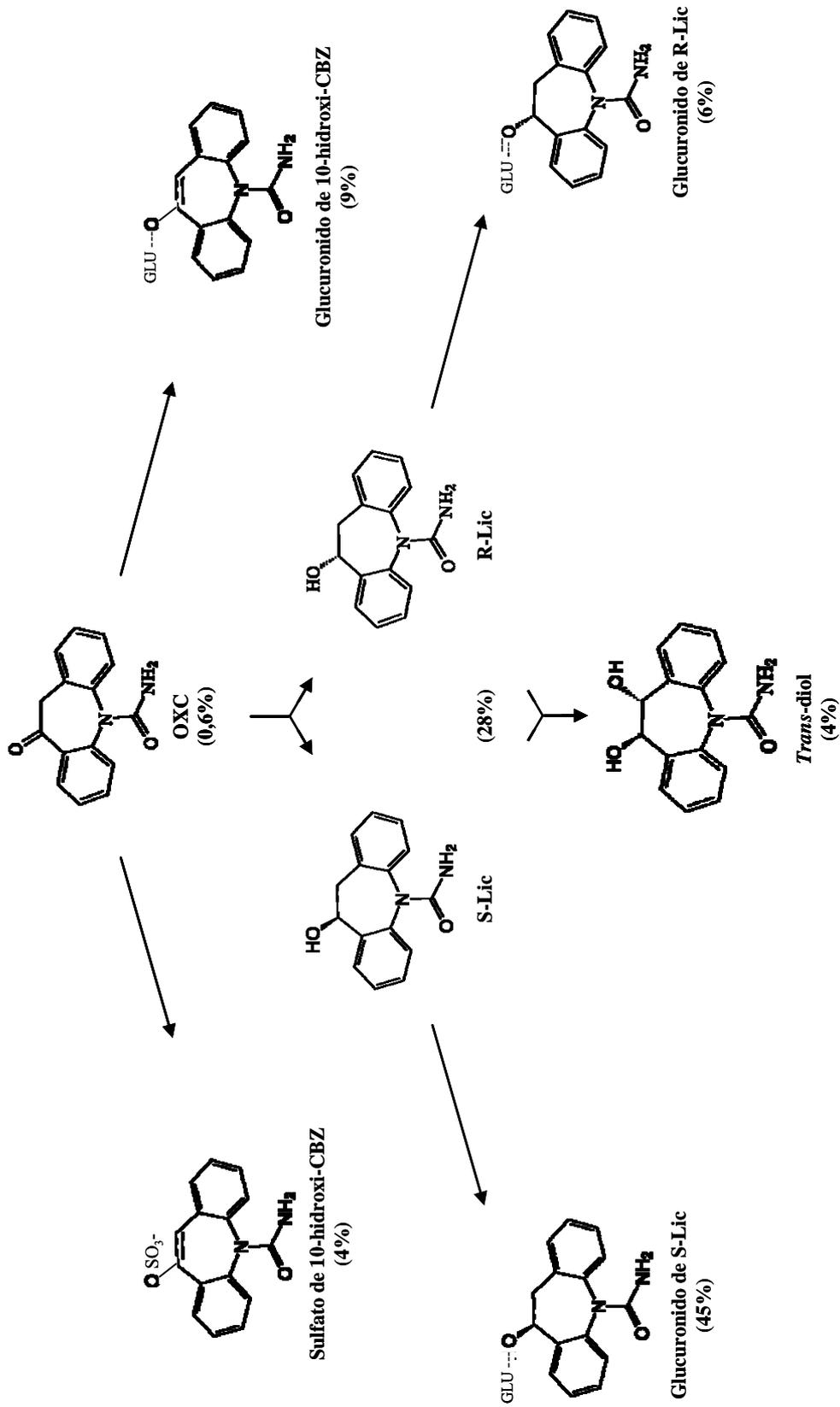


Figura II.3 – Vias metabólicas da OXC no homem e respectivas percentagens da dose excretadas na urina.

No homem a farmacocinética do ESL começou por ser avaliada em voluntários do sexo masculino, saudáveis e jovens (18-35 anos), em que doses únicas crescentes de ESL (20-1200 mg) foram administradas por via oral a grupos de seis indivíduos. As concentrações plasmáticas do ESL foram encontradas, geralmente, em valores abaixo do limite de quantificação (BLQ – *below limit of quantification*) do método analítico (0,02 µg/mL) em todos os pontos experimentais do tempo (0,25-48 h) e em todas as doses estudadas (ALMEIDA e SOARES-DA-SILVA, 2003). A rápida eliminação do ESL tem sido confirmada no homem em estudos sucessivos (ALMEIDA e SOARES-DA-SILVA, 2004; ALMEIDA *et al.*, 2005; MAIA *et al.*, 2008). Um estudo realizado por ALMEIDA *et al.* (2008) em doentes com insuficiência hepática moderada mostrou que o pico do ESL, quando presente no plasma em níveis mensuráveis, surge à 1 h pós-dose. Assim, quando administrado oralmente, o ESL é rapidamente absorvido a partir do tracto gastrointestinal humano e rápida e extensamente metabolizado em Lic, principal metabolito determinado no plasma humano, aparecendo a OXC como um metabolito *minor*. As C_{\max} de Lic e de OXC no plasma são alcançadas, respectivamente, no período de 0,75-4 h e de 4-6 h após a administração do ESL (ALMEIDA e SOARES-DA-SILVA, 2003 e 2004). A presença de alimentos não tem um efeito significativo na farmacocinética do ESL, pois, a velocidade e a extensão de exposição sistémica à Lic é semelhante em condições de jejum e após a ingestão de uma refeição enriquecida em gordura. Consequentemente, o ESL pode ser administrado aos doentes sem considerar o efeito dos alimentos (MAIA *et al.*, 2005). Nos estudos farmacocinéticos em que se empregou um método analítico quiral foi possível distinguir os enantiómeros S e R da Lic, constituindo o enantiómero S-Lic a principal entidade química responsável pela exposição sistémica ao fármaco. O t_{\max} plasmático observado para o enantiómero S-Lic foi semelhante ao observado para a Lic, porém, para o enantiómero R-Lic a C_{\max} no plasma foi alcançada mais tardiamente (~ 10 h) (ALMEIDA *et al.*, 2005; MAIA *et al.*, 2006; ALMEIDA *et al.*, 2008). Até ao momento não se encontram disponíveis na literatura estudos de balanço de massa que estabeleçam claramente qual a extensão da absorção do ESL e qual a percentagem que é excretada pelas fezes. No entanto, a F do ESL, medida em termos da AUC dos metabolitos S-Lic e R-Lic, parece ser 16% superior à observada para a OXC, após a ingestão de uma dose molar equivalente (BIALER *et al.*, 2004). A exposição sistémica à Lic e à OXC aumentou de maneira aproximadamente proporcional à dose após a administração oral de doses crescentes de ESL em regimes de dose única e de dose múltipla, sugerindo que a farmacocinética do

ESL é linear com a dose (ALMEIDA e SOARES-DA-SILVA, 2003, 2004 e 2007). Pela administração repetida do ESL observou-se a ocorrência de acumulação plasmática de Lic e de OXC e o estado de equilíbrio estacionário foi atingido em 4-5 dias para ambos os metabolitos, o que é consistente com uma $t_{1/2}$ efectiva de 20-24 h (ALMEIDA e SOARES-DA-SILVA, 2004 e 2007).

Os dados relativos à caracterização da distribuição no homem dos metabolitos activos do ESL são escassos, mas as características lipofílicas destes compostos sugerem uma boa distribuição. Para o enantiómero S-Lic o V_d normalizado pela F (V_d/F) foi estimado em 52,2 L, assumindo, obviamente, a biotransformação completa do pró-fármaco ESL em S-Lic (MAIA *et al.*, 2008). O valor obtido é concordante com os dados referentes ao V_d da Lic, o qual parece variar entre 0,7-0,8 L/kg (NATSCH *et al.*, 1997; MAY, KORN-MERKER e RAMBECK, 2003; BANG e GOA, 2004; FLESCH, 2004). Estudos *in vitro* com plasma humano indicaram que a percentagem de ligação às proteínas plasmáticas do enantiómero S-Lic, metabolito activo principal do ESL, é relativamente baixa (30%) (ALMEIDA e SOARES-DA-SILVA, 2007). Mediante a administração do ESL, a extensão de distribuição do enantiómero S-Lic para o leite materno e para o feto é desconhecida. Todavia, atendendo a que o enantiómero S-Lic é também o metabolito activo predominante da OXC, é esperado, também neste caso, uma passagem significativa para o leite materno e através da placenta.

Após administração oral o ESL é então rápida e extensamente eliminado pela desacetilação em S-Lic, ocorrendo esta transformação com preservação da estereoquímica. BIALER *et al.* (2007) referiram que esta reacção é mediada por esterases hepáticas e que a formação dos metabolitos *minor* (R-Lic e OXC) não é mediada por isoenzimas citocromo P450. Efectivamente, o metabolismo de primeira passagem do ESL parece estar ligeiramente diminuído nos indivíduos com insuficiência hepática, sugerindo que o fígado possa contribuir para a metabolização pré-sistémica do ESL. No entanto, a metabolização do ESL em S-Lic durante a primeira passagem não é dependente do fígado, pois, não foram observadas diferenças nos perfis concentração-tempo do ESL e do enantiómero S-Lic em doentes com e sem *shunt* porto-sistémico. Estes dados apontam para a possibilidade de ocorrer desacetilação do ESL no intestino durante a absorção ou no sangue imediatamente após ser absorvido. Na figura II.4 estão esquematizadas as principais vias metabólicas do ESL no homem e são indicadas as percentagens de exposição sistémica e de excreção urinária, durante 24 h, a partir do estado de equilíbrio estacionário (ALMEIDA *et al.*, 2008).

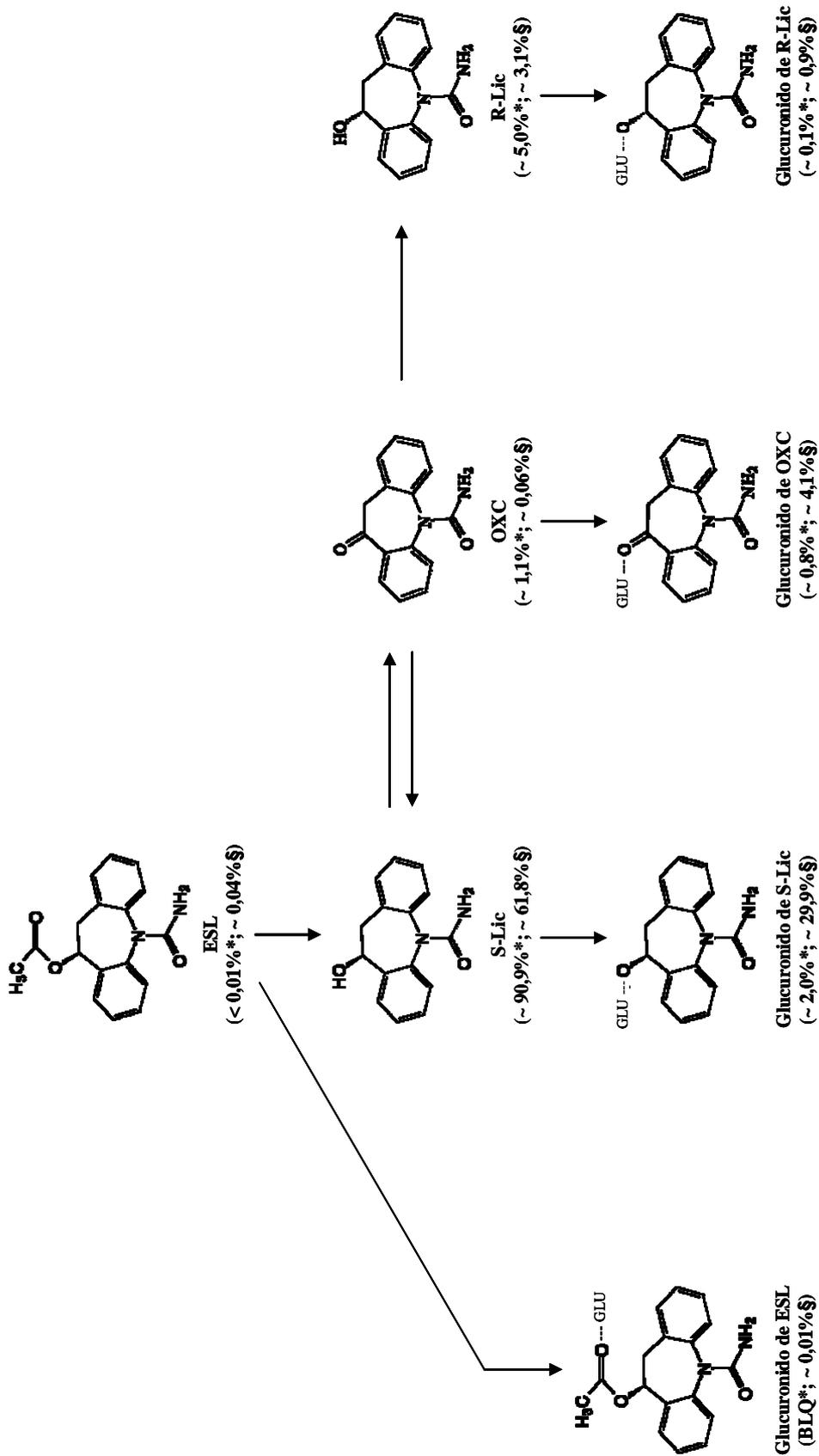


Figura II.4 – Vias metabólicas do ESL no homem e respectivas percentagens encontradas no plasma (*) e na urina (§) durante 24 h, após a administração oral de 800 mg de ESL, uma vez ao dia, durante 8 dias, em indivíduos saudáveis. Para os cálculos usou-se a AUC_{0-24h} plasmática e a quantidade excretada na urina. BLQ, abaixo do limite de quantificação (*below limit of quantification*).

A fracção activa (S-Lic, OXC e R-Lic) representa 97% da exposição sistémica total ao fármaco e o enantiómero S-Lic parece ser responsável por 90,9%. A exposição sistémica aos glucuronidos é inferior a 3%. Em indivíduos saudáveis a quantidade total de fármaco recuperada na urina durante as 24 h pós-dose correspondeu a 91% da dose de ESL administrada (800 mg), indicando que a excreção do ESL ocorre quase exclusivamente por via renal e que a F_{oral} do ESL é elevada. A quantidade excretada na urina do enantiómero S-Lic e dos respectivos glucuronidos foi cerca de 92% da quantidade total excretada e a quantidade excretada como S-Lic inalterada (61,8%) foi aproximadamente 2 vezes superior à excretada sob a forma de glucuronido de S-Lic (29,9%) nas primeiras 24 h após a dose (ALMEIDA *et al.*, 2008). Quando considerada a excreção urinária por um período mais alargado (72 h), a percentagem da quantidade total excretada na urina de S-Lic e do glucuronido de S-Lic é de 93%, semelhante à observada no período de 24 h, mas a percentagem excretada na forma de S-Lic inalterada (52%) tende a diminuir enquanto a percentagem excretada como glucuronidos de S-Lic (41%) tende a aumentar (MAIA *et al.*, 2008). Tal como seria de esperar, a CL_R dos metabolitos S-Lic, R-Lic e OXC é largamente inferior à dos glucuronidos correspondentes (ALMEIDA *et al.*, 2008; MAIA *et al.*, 2008). A CL_R calculada para o principal metabolito responsável pela exposição sistémica (S-Lic) é de aproximadamente 20 mL/min em indivíduos saudáveis, ou seja, bastante inferior à CL_{CR} e à taxa de filtração glomerular normal. Atendendo a que a percentagem de ligação às proteínas plasmáticas do metabolito S-Lic é apenas de 30%, uma parte importante do metabolito S-Lic filtrado será certamente reabsorvida a nível tubular (ALMEIDA *et al.*, 2008; MAIA *et al.*, 2008). A farmacocinética do ESL parece não ser afectada pelo sexo e o factor idade é irrelevante entre indivíduos adultos e idosos, porém, a extensão de exposição sistémica ao enantiómero S-Lic é menor em crianças mais jovens que em crianças mais velhas (ALMEIDA *et al.*, 2005; SOARES-DA-SILVA *et al.*, 2005; FALCÃO *et al.*, 2007; NUNES *et al.*, 2007). A presença de insuficiência hepática moderada também não tem uma influência relevante na farmacocinética do ESL e, por isso, com base na função hepática, doentes com insuficiência hepática ligeira a moderada tratados com ESL não requerem ajuste da dose (ALMEIDA *et al.*, 2008). Atendendo a que os metabolitos do ESL são excretados primariamente por via urinária, em doentes nos quais a função renal está comprometida e cuja CL_{CR} é inferior a 60 mL/min são requeridos ajustes na dose para evitar a ocorrência de acumulação e toxicidade potencial (MAIA *et al.*, 2008).

3.2 – Utilidade Clínica

A CBZ começou a ser usada para o tratamento da epilepsia no início dos anos 60 e é ainda hoje um dos fármacos antiepilépticos mais frequentemente prescritos (PYONNÖNEN, 1979; IORIO *et al.*, 2007). A eficácia antiepiléptica da CBZ está bem estabelecida em monoterapia e mantém-se como um fármaco de primeira linha no tratamento das crises parciais com ou sem generalização secundária e no tratamento das crises tónico-clónicas generalizadas (COPPOLA, 2004; DUCAN *et al.*, 2006). Embora a eficácia anticonvulsivante da CBZ seja indiscutível, outras propriedades farmacológicas cumulativas e indesejáveis que apresenta implicam um cuidado redobrado na sua utilização clínica. A margem terapêutica da CBZ é estreita (4-12 µg/mL), surgindo efeitos tóxicos para concentrações superiores a 12 µg/mL ou, por vezes, mesmo dentro da gama terapêutica considerada. Os efeitos adversos mais comuns incluem náuseas, enxaqueca, vertigens, sonolência, descoordenação, diplopia e hiponatremia. Outros efeitos potencialmente graves compreendem as reacções idiossincráticas, tais como hepatotoxicidade e discrasias sanguíneas, e a teratogenicidade. O aparecimento de *rash* cutâneo é um efeito comum (10%) e pode mesmo requerer a suspensão do tratamento (KING-STEPHENS, 1999; BRODIE e KWAN, 2001; ARROYO e KRAMER, 2001; NEELS *et al.*, 2004). Além destes efeitos laterais atribuídos à CBZ ou ao seu metabolito activo (CBZ-E), a CBZ apresenta algumas propriedades farmacocinéticas desfavoráveis: metabolismo quase exclusivamente hepático, ligação considerável às proteínas plasmáticas e capacidade para provocar auto-indução do seu metabolismo ou hetero-indução do metabolismo de outros fármacos metabolizados pelo sistema citocromo P450 hepático e administrados concomitantemente. Por outro lado, o metabolismo da CBZ pode também ser inibido por fármacos inibidores das enzimas microssomais hepáticas envolvidas na biotransformação daquela. Consequentemente, a CBZ apresenta um potencial elevado para a ocorrência de interacções farmacológicas, o que complica a sua utilização em regimes de politerapia. Estes inconvenientes farmacológicos podem contribuir para uma grande variabilidade intra e inter-individual nas concentrações plasmáticas da CBZ e do seu metabolito activo, atingindo-se, com facilidade, níveis tóxicos ou concentrações sub-terapêuticas susceptíveis de precipitar o aparecimento de novas crises epilépticas. Portanto, atendendo à fraca correlação entre a dose administrada e as concentrações plasmáticas de CBZ, o controlo dos doentes requer a monitorização dos níveis plasmáticos e o estabelecimento de correlação com os efeitos

clínicos (SPINA, PISANI e PERUCCA, 1996; GARERI *et al.*, 1999; JOHANNESSEN e BEN-MENACHEM, 2006; PERUCCA, 2006a). Apesar das dificuldades inerentes ao tratamento com a CBZ, pode conseguir-se uma boa tolerabilidade com o aumento gradual da dose do fármaco e uma boa eficácia com o ajuste da dose nas primeiras semanas de tratamento ou sempre que ocorram alterações na terapêutica instituída (TOMSON e BRODIE, 1992; FERRENDELI, 2001). O aparecimento de formulações de CBZ de libertação prolongada foi também importante para reduzir as flutuações diárias nas concentrações plasmáticas e para otimizar a posologia (JOHANNESSEN e BEN-MENACHEM, 2006).

A OXC foi primeiro introduzida na Dinamarca em 1990 e só mais recentemente foi aprovada nos Estados Unidos e em muitos dos países Europeus, estando registada actualmente em mais de 50 países (BIALER *et al.*, 1996; BIALER *et al.*, 2002). A OXC está indicada para a utilização clínica em terapia adjuvante ou em monoterapia no tratamento de adultos e crianças com crises parciais. Concretamente, está aprovada nos Estados Unidos em terapia adjuvante para crianças de idade igual ou superior a 2 anos e em monoterapia para crianças de idade igual ou superior a 4 anos, enquanto na Europa está aprovada em terapia adjuvante ou em monoterapia para crianças de idade igual ou superior a 6 anos (KOTHARE *et al.*, 2006). Os resultados dos ensaios clínicos em adultos e crianças com epilepsia parcial refractária mostraram que o tratamento com a OXC é eficaz na melhoria do controlo das crises e é de notar que a CBZ foi o antiepiléptico de base mais frequentemente instituído. Estes dados sugerem a possibilidade da ocorrência de sinergismo entre a OXC e a CBZ para o efeito anticonvulsivante e, em consequência, nos doentes com crises parciais refractárias à CBZ a administração concomitante de OXC pode ser um regime terapêutico eficaz (BEYDOUN e KUTLUAY, 2001). Por outro lado, em doentes com epilepsia parcial não tratada a eficácia da OXC não difere da apresentada pelos antiepilépticos clássicos (CBZ, PHT e VPA), mas a OXC é melhor tolerada que a CBZ e a PHT (BEYDOUN e KUTLUAY, 2001; GIL-NAGEL, 2003). Alguns estudos têm também demonstrado a eficácia da OXC em monoterapia nas crises tónico-clónicas generalizadas (WELLINGTON e GOA, 2001). A OXC apresenta um perfil favorável de segurança e de tolerabilidade e os efeitos adversos mais comuns incluem sonolência, enxaqueca, vertigens, náuseas e descoordenação, os quais são sobreponíveis aos da CBZ mas de menor severidade. Ao contrário do observado para a CBZ, não foram referidos para a OXC efeitos adversos clinicamente significativos nos sistemas

hematológico e hepático. Todavia, à semelhança do que acontece para a CBZ, a OXC também induz *rash* cutâneo embora com menor frequência e hiponatremia. O risco da indução de hiponatremia pela OXC é dependente da idade, sendo extremamente raro nas crianças e mais frequente na população idosa (BEYDOUN e KUTLUAY, 2001; MARTINEZ *et al.*, 2006). SACHDEO *et al.* (2006) referiram que a qualidade de vida dos doentes com crises epiléticas parciais melhorou significativamente quando se procedeu à conversão para a monoterapia com OXC. Assim, globalmente, a OXC apresenta, em relação à CBZ, propriedades farmacológicas favoráveis, particularmente, um perfil farmacocinético mais preditivo e com menor potencial para interações farmacológicas tornando-se mais efectivo em regimes de politerapia, uma melhor tolerabilidade que a da CBZ e a dose de manutenção da OXC pode ser introduzida mais rapidamente que a da CBZ (FERRENDELLI, 2001; CLEMENS, MÉNES e NAGY, 2004; SCHMIDT e ELGER, 2004).

O ESL é um novo fármaco antiepiléptico em fase final de desenvolvimento clínico como terapia adjuvante aos antiepilépticos clássicos no tratamento da epilepsia parcial refractária e encontra-se, também, em ensaios clínicos de fase II como monoterapia para a epilepsia parcial (ALMEIDA e SOARES-DA-SILVA, 2007). Apesar da fase adiantada de ensaios clínicos com o ESL, os dados de eficácia disponíveis são ainda escassos e resumem-se a um estudo de fase II multicêntrico, duplamente cego, randomizado e controlado com placebo conduzido em 143 doentes com epilepsia parcial refractária ao tratamento com um ou dois fármacos antiepilépticos e que apresentavam pelo menos 4 crises mensais de início parcial. Os doentes foram randomizados em três grupos: um grupo de tratamento com ESL em toma única diária, um grupo de tratamento com ESL em duas tomas diárias e um grupo de tratamento com placebo. O estudo consistiu em testar a eficácia de três doses de ESL (400, 800 e 1200 mg) em intervalos de 4 semanas e o indicador primário de eficácia foi a redução igual ou superior a 50% na frequência das crises. No final do tratamento a percentagem de doentes que cumpriu o indicador de eficácia indicado foi de 54% com o ESL administrado em dose única diária, 41% com o ESL administrado em duas tomas diárias e 28% com o placebo. Todavia, em relação ao placebo, apenas foi observada uma diferença estatisticamente significativa na redução da frequência das crises para o grupo de tratamento no qual o ESL foi administrado em toma única ($p=0,008$). Por outro lado, a percentagem de doentes sem crises no final do estudo foi de 24% em ambos os grupos

de tratamento com o ESL (ELGER *et al.*, 2007). Até então os estudos clínicos com o ESL já implicaram a exposição ao fármaco de mais de 1200 indivíduos, incluindo indivíduos saudáveis expostos à dose mais alta usada (2400 mg/dia) e doentes epiléticos submetidos ao tratamento com o ESL em terapia adjuvante até 1200 mg/dia. Os dados decorrentes dos ensaios clínicos de fase I e de fase II do ESL têm demonstrado um perfil favorável de segurança e de tolerabilidade. Os efeitos adversos manifestados foram geralmente ligeiros e os referidos com maior frequência em indivíduos saudáveis incluíram enxaqueca, sonolência, vertigens e parestesias da língua, lábios e periorais. Nos doentes epiléticos os efeitos adversos mais comuns atribuídos ao ESL foram náuseas, enxaqueca, sonolência e vertigens. A maioria destes efeitos adversos foram de fraca intensidade e não foi observado nenhum efeito adverso grave relacionado com o ESL. Nos diferentes grupos de indivíduos não foram notadas alterações anormais nos testes laboratoriais de avaliação da segurança clínica nem nos sinais vitais (ALMEIDA e SOARES-DA-SILVA, 2003, 2004 e 2007; ELGER *et al.*, 2007).

Para além da epilepsia, a CBZ e a OXC parecem ter aplicabilidade clínica em outras perturbações neurológicas e psiquiátricas. A CBZ tem demonstrado utilidade no tratamento da dor neuropática, esquizofrenia e perturbação bipolar, enquanto a OXC parece ser eficaz na dor neuropática e melhora o humor em doentes com epilepsia (MAZZA *et al.*, 2007; LANDMARK, 2008). O ESL está também em desenvolvimento clínico para o tratamento da perturbação bipolar e da dor neuropática (ALMEIDA e SOARES-DA-SILVA, 2007; ALMEIDA *et al.*, 2008).

4. OBJECTIVOS DESTA DISSERTAÇÃO

No momento em que se iniciaram os trabalhos conducentes à elaboração da presente dissertação o ESL encontrava-se em fase de desenvolvimento clínico, mas permaneciam ainda por elucidar muitas questões relativas à farmacocinética do ESL no homem. Assim, com este trabalho pretende caracterizar a farmacocinética e a disposição oral do ESL e dos seus metabolitos S-Lic e R-Lic em murganhos para melhor entender a disposição do ESL no homem e complementar a informação farmacocinética proveniente dos ensaios clínicos. De facto, só o estudo da evolução temporal das concentrações plasmáticas e tecidulares do ESL e dos seus metabolitos pode esclarecer a cinética das reacções metabólicas envolvidas e avaliar a correspondente biodisposição. Além disso, com a administração separada dos enantiómeros puros S-Lic e R-Lic a presença de estereoselectividade nos processos farmacocinéticos pode ser investigada bem como a ocorrência de interconversão enantiomérica. Todavia, para tornar estes objectivos exequíveis é necessário dispor de um método analítico adequadamente desenvolvido e validado nas matrizes das amostras a analisar, pois só assim os dados analíticos obtidos são fidedignos. Por outro lado, dado o volume elevado de amostras analisadas durante o desenvolvimento clínico de um novo fármaco e a eventual necessidade de monitorização farmacoterapêutica, considerámos ser relevante o desenvolvimento de uma técnica analítica simples e prática para quantificar o ESL e os seus metabolitos S-Lic, R-Lic e OXC em plasma humano.

Assim, concretamente, os objectivos traçados ao delinear a execução deste trabalho consistiram em:

- Desenvolver e validar uma técnica analítica quiral de cromatografia líquida com detecção no ultravioleta (LC-UV) para a determinação simultânea do ESL e dos seus metabolitos (S-Lic, R-Lic e OXC) na matriz de plasma humano.
- Desenvolver e validar uma técnica analítica quiral de LC-UV para a determinação simultânea do ESL e dos seus metabolitos (S-Lic, R-Lic e OXC) nas matrizes de plasma, cérebro, fígado e rim de murganho. Face à

impossibilidade de estudar todas as matrizes biológicas, as seleccionadas são aquelas com maior interesse farmacocinético perante fármacos com actividade no SNC.

- Caracterizar a farmacocinética do ESL no murganho e avaliar a biodisposição dos seus metabolitos no plasma, no cérebro e no fígado.
- Caracterizar a farmacocinética dos enantiómeros S-Lic e R-Lic no murganho, após a administração separada de cada um deles, e avaliar a biodisposição correspondente no plasma, no cérebro, no fígado e no rim. Seguidamente, averiguar a presença de estereoselectividade nos processos farmacocinéticos e a possibilidade de ocorrência de interconversão dos enantiómeros da Lic.